

STRUKTUR DAN FUNGSI AQUAPORIN, PROTEIN WATER-CHANNEL

Kwartarini Murdiastuti *

ABSTRACT

Aquaporin (AQP) is a family of transmembrane protein that facilitates the transport of water across the cell membrane. AQP is a serpentine type membrane protein, having 6 transmembrane domains connected by 5 loops. There are 2 NPA sequence in loop B and loop E, through which water pass. This NPA motif is facing to make a hemi-channel. There are mercurial binding site, glycosilation site and potential phosphorylation site in the molecule. Their locations are different depending on different molecules.

Members of this family are distributed widely in many species of living organisms, e.g., in microorganisms, plants, and mammals. The tissue distribution, structure and function of mammalian AQPs, water-channel proteins, are briefly reviewed in this paper.

Key words: Aquaporin, Water channel, Trafficking, Rat, Human

PENDAHULUAN

Tahun 1992, Preston dkk. melakukan klon dan menemukan suatu protein *water channel* dari sel-sel darah merah dan menamainya aquaporin¹, yang kemudian lebih dikenal sebagai AQP1. Nama yang pertama diberikan untuk AQP1 adalah CHIP 28 (*Channel forming-integral protein 28*)², dan secara analisis homologi menyatakan bahwa protein ini adalah anggota dari kelompok MIP (*major intrinsic protein* dari lensa mata). MIP diperkirakan satu kelompok dengan AQP dan sekarang dianggap sebagai AQP0. Teknik yang terbaru di bidang biologi molekular telah menemukan hasil klon anggota-anggota baru kelompok ini.

Akhir 1998, 10 AQP cDNA telah selesai diklon pada tikus. Hasilnya, pada tikus dan manusia hampir semua jaringan mengekspresi satu atau lebih AQP. Mereka memfasilitasi perpindahan cairan untuk dapat melewati membran sel dan terlibat dalam sekresi cairan serta absorpsi di berbagai jaringan hewan. Perpindahan cairan melalui AQP tergantung pada gradien osmotiknya

water channel pada group kedua, group pertama mempunyai 10-20 ekstra asam amino pada loop ke tiga dan lima (loop C dan E).

Pada group kedua, ada perbedaan struktur untuk posisi *mercurial binding* (ada di AQP1, 2, 5, dan 6 tapi tidak di AQP0 dan 4) dan motif target untuk fosforilasi *cAMP-dependent protein kinase A* (PKA). Motif target PKA hanya ada di beberapa AQPs (AQP1, 2, 4, dan 5), jadi tidak semuanya. Fungsi posisi fosforilasi protein kinase yang merupakan karakteristik pada AQP2 adalah *vasopressin-regulated water channel* yang diekspresikan di duktus kolektivus ginjal dan memainkan peran utama dalam pengaturan konsentrasi urin.

Penelitian-penelitian terakhir menyatakan bahwa aktivitas AQPs juga dipengaruhi oleh pH. Pada oosit yang mengekspresi AQP6, anion meningkat secara cepat dan reversibel pada pH kurang dari 5.5⁶, sedangkan aktivitas transpot gliserol dan air oleh AQP3 dapat berubah secara cepat dan reversibel tergantung pH⁷.

TINJAUAN PUSTAKA

1. Struktur Aquaporins

Struktur protein dari anggota kelompok AQP mempunyai beberapa gambaran umum sebagai berikut, tersusun dari dua tandem berulang yang terdiri dari enam transmembran domain dan dua susunan NPA (Asn-Pro-Ala)⁴. Anggota dari kelompok AQP diklasifikasikan menjadi 3 group. Group ke satu adalah AQP3, 7, 9; group ke dua meliputi AQP0, 1, 2, 4, 5, 6 serta satu-satunya dari group ke tiga yaitu AQP8.

AQPs pada group pertama memfasilitasi transpot gliserol, urea serta air⁵, sedangkan untuk group kedua hanya untuk transpot air. Bila dibandingkan dengan

Distribusi jaringan dan fungsi aquaporins

Preston dkk.¹ melaporkan AQP1 adalah protein *water channel* pertama yang ditemukan pada saat melakukan penelitian dalam protein sel darah merah manusia⁸. AQP1 terdapat dalam jumlah yang banyak di sel darah merah, tubulus konvolusi proximal ginjal^{9,10} dan loop Henle cabang discendence^{11,12}. AQP1 juga terekspresi secara kuat di membran apikal mikrovili cerebrosipinal¹³, vascular peribronchial dan pleura visceral serta berkurang di kapiler dan epitel alveolar¹⁴. AQP1 diketahui dapat terekspresi pada kelenjar exocrine seperti kelenjar lacrimal, kelenjar salivarius, pankreas dan kelenjar laktasi mamalia¹⁵.

AQP2, dulu bernama AQP-CD yaitu *water channel* yang berada di duktus kolektivus ginjal tempat urine terakhir terbentuk¹⁶. Permeabilitas membran sel duktus kolektivus terhadap air diatur oleh *vasopressin* yang mempengaruhi translokasi AQP2 dari vesikel

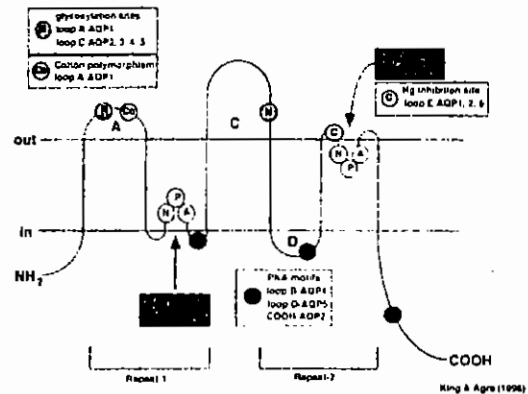
*Bagian Periodonsia, FKG-UGM

intraselular ke apikal membran (disebut *trafficking*)¹⁷. Kerusakan pada permeabilitas air yang diatur *vasopressin* di duktus kolektivus menghasilkan suatu kondisi *nephrogenic diabetes insipidus* (NDI) yaitu suatu penyakit pada ginjal yang tidak bisa menghasilkan urine yang pekat¹⁸. Penelitian terbaru memperlihatkan bahwa kelainan tersebut dapat dikoreksi dengan *Chemical chaperones in vitro*¹⁹. Fungsi AQP2 dan atau ekspresinya diatur secara jangka pendek dan panjang²⁰.²¹ Pada pengaturan jangka pendek, *trafficking* AQP2 ke membran plasma dirangsang oleh stimulasi *vasopressin* dengan mengikat pada reseptornya sehingga meningkatkan cAMP level dan mengaktifasi PKA serta membawa ke fosforilasi AQP2 pada Ser256. Fosforilasi ini diperkirakan menjadi dasar *trafficking* AQP2 yang mengandung vesikel ke membran plasma. Pada pengaturan jangka panjang, stimulasi reseptor *vasopressin* meningkatkan transkripsi nuklear AQP2 gen melalui faktor *cAMP-dependent transcription*. Aquaporins lain seperti AQP1 terfosforilasi oleh PKA dalam suatu aturan *cAMP-dependent* yang ketika terekspresi di *Xenopus* oosit menghasilkan suatu peningkatan konduktansi kation²². Han dkk. menyatakan bahwa fosforilasi *PKA-dependent* terlibat dalam pengaturan aktivitas AQP1²³.

AQP3 adalah suatu *water channel* penghambat merkuri yang memfasilitasi transpor sejumlah kecil cairan nonionik seperti urea dan glikolol disamping air dan terekspresi dalam jumlah berlebih di medula ginjal dan colon. AQP3 berlokasi di membran basolateral sel duktus kolektivus ginjal²⁴ dan beberapa sel epitel di saluran kencing, pencernaan dan pemapasan²⁵. Penelitian yang terakhir menyatakan bahwa *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR) adalah suatu regulator AQP3 di sel epitel saluran pemapasan, CFTR sendiri bukan *water channel* tetapi aktivasi CFTR pada AQP3 meningkatkan permeabilitas air di kondisi normal jadi tidak di sel epitel saluran pemapasan *cystic fibrosis* manusia²⁶.

Transkrip AQP4 mempunyai dua posisi inisiasi translasional²⁷ dan diketahui membentuk suatu kompleks heterotetramer yang terdiri dari dua 32 KDa dan dua 34 KDa polipeptid²⁸, dan cDNAnya diklon dari lung²⁹ dan otak³⁰ cDNA libraries. AQP4 adalah *mercury insensitive water channel* (MIWC) yang pertama ditemukan dan insensitifnya berhubungan dengan adanya kekurangan cystein di posisi *mercury-sensitive*. AQP4 berada di membran plasma basolateral dari sel prinsipel duktus kolektivus ginjal dan di membran lateral sel epitel trachea, iris, *ciliary body* dan colon serta di lapisan sel neural retina³⁰. Sebuah penelitian menggunakan mencit knockout transgenik yang kekurangan AQP4 mengindikasikan bahwa pada perkembangan, pertahanan hidup, pertumbuhan dan fungsi neuromuskular tidak atau sedikit berpengaruh

tetapi berpengaruh negatif pada kemampuan untuk mengatur konsentrasi urin³¹.



Gambar 1 Struktur Umum AQP

AQP5 cDNA pertama diisolasi dari kelenjar ludah submandibular dan telah ditemukan di beberapa jaringan kelenjar exocrine yang lain seperti kelenjar ludah sublingual, parotid, dan lacrimal, juga di trachea, mata serta lung⁴. Penelitian knockout AQP5 pada mencit menunjukkan bahwa saliva dari mencit ini menjadi hipertonik, viscous dan volumenya mengecil. Hal ini secara langsung mengidentifikasi bahwa AQP5 mempunyai peran penting dalam sekresi saliva³². AQP5 menunjukkan 63 % homolog terhadap AQP2, dan mempunyai motif target *cAMP-dependent* protein kinase di loop ke empat (loop D di intraselular domain, Gambar.1)^{4,33}.

Fungsi motif ini diketahui sesudah fosforilasi, tetapi itu mungkin diperlukan untuk mengatur permeabilitas cairan maupun mekanisme lain. Menurut Ishikawa dkk., pada kelenjar parotid tikus AQP5 bertranslokasi dalam respon terhadap elevasi cytosolic Ca^{2+} ³⁴. Berdasarkan penelitian yang menggunakan gen *transfected-AQP5* sel kelenjar ludah manusia (HSG), kita mengusulkan bahwa *trafficking* AQP5 ke membran plasma diusahakan dengan peningkatan Ca^{2+} intraselular dan interaksi AQP5 yang mengandung vesikel dengan sitoskeleton yang dilibatkan dalam *trafficking* ini³⁶. Hal ini juga terjadi di kelenjar parotis tikus dimana *epinephrine-induced trafficking* AQP5 memerlukan interaksi dng sitoskeleton³⁶. Penelitian-penelitian lanjutan diperlukan untuk menentukan mekanisme *trafficking* AQP5 secara detail. AQP5 diatur dengan hiperosmolaritasnya, sedangkan ekspresi *water channel* ini dipengaruhi oleh stress hipertonik dan induksi yang memerlukan aktivasi *extracellular signal-regulated kinase* (ERK)³⁷. Jenq dkk. menunjukkan bahwa ekspresi AQP1 dapat ditingkatkan dengan adanya hiperosmolaritas yang dapat mempengaruhi translokasi AQP1 dari sitoplasma ke membran sel^{38,39}.

AQP6 adalah suatu protein *water channel* dng vesikel intraseluler³⁷, pertama kali ditemukan di ginjal

manusia dan 52% homolog dengan AQP2. AQP6 tidak meningkatkan permeabilitas gliserol atau urea tapi meningkatkan permeabilitas osmotik air. Penelitian oleh Yasui dkk.⁴⁰ mengimplikasikan bahwa AQP6 ikut berperan dalam membedakan fungsi fisiologi dari filtrasi glomerular, endositosis tubular dan metabolisme asam-basa di ginjal. Elemen TATA, SP1, E-box, AP1 dan AP2 diidentifikasi dalam regio promotornya. Gen AQP6 dipetakan pada kromosom 12, locus 12q13 dimana gen AQP2 dan MIP juga berlokasi⁴¹.

AQP7 dari testis tikus mempunyai homologi tertinggi dengan AQP3 (48%) dan tidak dihambat oleh *mercury chloride*. AQP7 memfasilitasi transpot gliserol, urea dan juga air. AQP7 berlokasi dan terekspresi di *late spermatids* di tubulus seminiferous dan sperma yang sudah masak⁴².

AQP8 dilaporkan terekspresi secara kuat di pankreas dan liver tikus dan agak kurang intensitasnya pada colon dan kelenjar ludah. Pada pankreas dan kelenjar ludah, AQP8 berlokasi di sel acinar dan di jaringan colon AQP8 berada di sel epitel *absorptive colonic*⁴³. AQP8 telah diklon dari testis dan menunjukkan bahwa AQP8 dihambat oleh *mercury chloride* (55% di 0.3mM) dan AQP8 tidak memfasilitasi transpot gliserol. AQP8 ini terekspresi di semua tingkatan sel yang terlibat di spermatogenesis, dari spermatosit primer sampai spermatid di tubulus seminiferous⁴⁴.

Tabel 1. Rangkuman distribusi AQP di jaringan tikus

AQPs	Tissues
AQP0	Lens
AQP1	Submandibular gland, paratoid gland, lung, upper stomach, lower stomach, duodenum, jejunum, ileum, caecum, colon, erythrocytes, renal tubules, bile duct epithelial cells or cholangiocytes.
AQP2	Kidney collecting duct.
AQP3	Kidney, lung, upper stomach, lower stomach, jejunum, ileum, colon, red blood cells, airway epithelial cells.
AQP4	Parotid gland, eye, brain, kidney, lungs, lower stomach, duodenum, ileum.
AQP5	Submandibular gland, parotid gland, sublingual gland, brain, lungs, duodenum, cornea, trachea.
AQP6	Renal epithelia.
AQP7	Testis.
AQP8	Liver, pancreas, testis, jejunum, colon.
AQP9	Liver, peripheral leukocytes

AQP9 diklon dari leukosit manusia dan mempunyai homologi yang tinggi dengan AQP3 dan AQP7. Transpot cairan oleh AQP9 dihambat *mercury chloride* (48% pada 0.3mM). AQP9 memfasilitasi

transpot urea tapi tidak untuk transpot gliserol, hal ini merupakan suatu karakter permeabilitasnya yang unik. AQP8 terekspresi secara kuat di leukosit dan secara lemah di liver, lung dan spleen⁴⁵. Distribusi jaringan ke sepuluh AQPs dirangkum dalam Tabel 1.

DAFTAR PUSTAKA

1. Preston, G.M., Carroll, T.P., Guggino, W.B. and Agre, P., Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein, *Science*, 1992 256: 385-387.
2. Preston, G.M., and Agre, P., Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88: 11110-11114.
3. Abrami, L., Simon, M., Rousselet, G., Berthoud, V., Buhler, J.M. and Ripchoce, P., Sequence and functional expression of an amphibian water channel, FA-CHIP: a new member of the MIP family, *Biochim. Biophys. Acta*, 1994, 1192: 147-151.
4. Lee, M.D., King, L.S. and Agre, P., The aquaporin family of water channel proteins in clinical medicine, *Medicine*, 1997, 76: 141-156.
5. Beitz, E. And Schultz, J.E., The mammalian aquaporin water channel family: A promising new drug target, *Current Medical Chemistry*, 1999, 6: 457-467.
6. Yasui, M., Hazama, A., Kwon, T.H., Nielsen, S., Guggino, W.B. and Agre, P., Rapid gating and anion permeability of an intracellular aquaporin, *Nature*, 1999 402: 184-187.
7. Zeuthen, T. and Klaerke, D.A., Transport of water and glycerol in aquaporin 3 is gated by H⁺, *J. Biol. Chem.*, 1999, 274: 21631-21636.
8. Saboori, A.M., Smith, B.L. and Agre, P., Polymorphism in the Mr 32,000 Rh protein purified from Rh (D) positive and negative erythrocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85: 4042-4045.
9. Denker, B.M., Smith, B.L., Kuhajda, F.P. and Agre, P., Identification, purification and partial characterization of a novel Mr. 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules, *J. Biol. Chem.*, 1988, 263: 15634-15642.
10. Smit, B.L. and Agre, P., Erythrocyte Mr. 28,000 transmembrane protein exists as a multi-subunit oligomer similar to channel proteins. *J. Biol. Chem.*, 1991, 266: 6407-6415.

11. Nielsen, S., Pallone, T., Smith, B.L., Christensen, E.I., Agre, P. and Maunbach, A. B., Aquaporin-1 water channels in short and long loop descending thin limbs and in descending vasa recta in rat kidney, *Am. J. Physiol.*, 1995, 268: E1023-1037.
12. Nielsen, S., Smith, B.L., Christensen, E.I., Knepper, M.A. and Agre, P., CHIP 28 water channels are localized in constitutively water-permeable segments of nephron, *J. Cell. Biol.*, 1993, 120: 371-383.
13. Nielsen, S., Smith, B.L., Christensen, E.I. and Agre, P., Distribution of the aquaporin CHIP in secretory and resorptive epithelia and capillary endothelia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90: 7275-7279.
14. King, L.S., Nielsen, S. and Agre, P., Aquaporin-1 water channels protein in lung: ontogeny and steroid-induced expression and distribution in rat, *J. Clin. Invest.*, 1996, 97:2183-2191.
15. Fushimi, K., Uchida, S., Hara, Y., Hirata, Y., Marumo, F., and Sasaki, S., Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule, *Nature*, 1993, 361: 549-552.
16. Nielsen, S., Digiovanni, S.R., Christensen, E.I., Knepper, M.A. and Harris, H.W., Cellular and subcellular immunolocalization of vasopressin-regulated water channel in rat kidney, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90: 11663-11667.
17. Nielsen, S., Chou, C.L., Marples, D., Christensen, E.I., Kishore, B.K. and Knepper, M.A., Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing water channels to plasma membrane, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92: 1013-1017.
18. Fujiwara, T.M., Morgan, K. and Dicket, D.G., Molecular biology of diabetes insipidus, *Ann. Rev. Med.*, 1995, 46: 331-343.
19. Tamarappoo, B.K. and Verkman, A.S., Defective aquaporin-2 trafficking in nephrogenic diabetes insipidus and correction by chemical chaperones, *J.Clin. Invest.*, 1998, 101: 2257-2267.
20. Yamamoto, T., Sasaki, S., Fushimi, K., Isibashi, K., Yaoita, E., Kawasaki, K., Maruo, F. and Kihara, I., Vasopressin increases AQP-CD water channel in apical membrane of collecting duct cells in Brattleboro rats, *Am. J. Physiol.*, 1995, 268: C1546-C1551.
21. Marples, D., Frokiaer, J. and Nielsen, S., Long-Term regulation of aquaporin in the kidney, *Am. J. Physiol.*, 1999, 276: F331-F339.
22. Yool, A.J., Stamer, W.D. and Regan, R.W., Forskolin stimulation of water and cation permeability in aquaporin-1 water channel, *Science*, 1996, 273: 1216-1218.
23. Han, Z. and Patil, R.V., Protein kinase A-dependent phosphorylation of aquaporin-1, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000, 273: 328-332.
24. Isibashi, K., Sasaki, S., Fushimi, K., Uchida, S., Kuwahara, M., Saito, H., Furukawa, T., Nakajima, K., Yamaguchi, Y., Gojobori, T. and Marumo, F., Molecular cloning and expression of a member of the aquaporin family with permeability to glycerol and urea and addition to water expressed at the basolateral membrane of kidney collecting duct cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91: 6269-6273.
25. Matsuzaki, T., Suzuki, T., Koyama, H., Tanaka, S., and Takata, K., Water channel protein AQP-3 in present in epithelia exposed to the environment of possible water loss, *J. Histochem. Cytochem.*, 1999, 47: 1275-1286.
26. Rainer S., Roland, N., Greger, R. and Karl, K., The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activates aquaporin-3 in airway epithelial cells, *J.Biol. Chem.*, 1999, 274: 11811-11816.
27. Jung, J.S., Bhat, R.V., Preston, G.M., Guggino, W.B., Baraban, J.M. and Agre, P., Molecular cloning and characterization of an aquaporin cDNA from brain: candi-date osmoreceptor and regulation of water balance, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91:13052-13056.
28. Neely, J.D., Christensen, B.M., Nielsen, S. and Agre, P., Heterotetrameric composition of aquaporin-4 water channels, *Biochem.*, 1999, 38:11156-11163.
29. Hasegawa, H., Ma, T., Skach, W., Matthey, M.A. and Verkman, A.S., Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water transporting tissues, *J. Biol. Chem.*, 1994, 269:5497-5500.
30. Frigeri, A., Groopper, M.A., Truck, C.W. and Verkman, A.S., Immunolocali-zation of the mercurial-intensive water channel and glycerol intrinsic protein in epithelial cell plasma membranes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92: 4328-4331.
31. Ma, T., Yang, B., Gillespie, A., Carlson, E.I., Epstein, C.J. and Verkman, A.S, Generation and phenotype of a transgenic knockout mouse lacking the mercurial- insensitive water channel aquaporin-4, *J. Clin. Invest.*, 1997, 100: 957-962.
32. Ma, T., Song, Y., Gillespie, A., Carlson, E.J., Epstein, C.J. and Verkman, A.S, Defective secretion

- of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channel, *J.Biol. Chem.*, 1999, 274: 20071-20074.
33. Raina, S., Preston, G.M., Guggino, W.B. and Agre, P., Molecular cloning and characterization of an aquaporin cDNA from salivary, lacrimal, and respiratory tissues, *J. Biol. Chem.*, 1995, 270:1908-1912.
34. Ishikawa, Y., Eguchi, T., Skowronski, M.T. and Ishida, H., Acetylcholine acts on M3 muscarinic receptors and induces the translocation of aquaporin-5 water channel via cytosolic Ca^{2+} elevation in rat parotid glands, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, 266: 443-447.
35. Tada, J., Sawa, T., Yamanaka, N., Shono, M., Akamatsu, T., Tsumura, K., Involvement of vesicle-cytoskeleton interaction in AQP5 trafficking in AQP5-gene-transfected HSG cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999, 266: 443-447.
36. Ishikawa, Y., Skowronski, M.T., Inoue, N. And Ishida, H.:Adrenoceptor- induced trafficking of aquaporin-5 to the apical plasma membrane of rat parotid cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 1999, 265: 94-100.
37. Hoffect, J., Leitch, V., Agre, P. And King,L.S., Hypertonic induction of aquaporin-5 expression through an ERK-dependent pathway, *J. Biol. Chem.*, 2000, 275: 9070-9077.
38. Jenq, W., Mathieson, I.M., Ihara, W. And Ramirez, G., Aquaporin-1, An osmo-inducible water channel in cultured mIMCD cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998 245 : 804-809.
39. Jenq, W., Cooper, D.R., Bittle, P. And Ramirez, G., Aquaporin-1 expression in proximal tubule epithelial cells of human kidney in regulated by hyperosmolarity and contrast agents, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999, 256: 240-248.
40. Yasui, M., Kwon, T.H., Knepper, M.A., Nielsen, S. and Agre, P., Aquaporin-6: an intracellular vesicle water channel protein in renal epithelia, *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*, 1999, 96: 5808-5813.
41. Ma, T., Yang, B., Kuo, W.L. and Verkman, A.S., cDNA cloning and gene structure of a novel water channel expressed exclusively in human kidney: evidence for a gene cluster of aquaporins at chromosome locus 12q13, *Genomics*, 1996, 35: 543-550.
42. Ishibasi, K., Kuwahara, M., Gu, Y., Kageyama, Y., Tohsaka, A., Suzuki, F., Marumo, F. And Sasaki, S., Cloning and functional expression of a new water channel abundantly expressed in the testis permeable to water, glycerol, and urea, *J. Biol. Chem.*, 1997, 272:20782-20786.
43. Koyama, Y., Yamamoto, T., Kondo, D., Funaki, H.,Yaoita, E., Kawasaki, K., Sato, N., Hatekeyama, K. and Kihara,I., Molecular cloning of a new aquaporin from rat pancreas and liver, *J. Biol. Chem.*, 1997, 272: 30329-30333.
44. Ishibasi, K., Kuwahara, M., Kageyama, Y., Tohsaka, A., Marumo, F. And Sasaki, S., Cloning and functional expression of a second new aquaporin abundantly expressed in testis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 1997, 237: 714-718.
45. Ishibasi, K., Kuwahara, M., Gu, Y., Tanaka, Y., Marumo, F. And Sasaki, S., Cloning and functional expression of a new aquaporin (AQP9) abundantly expressed in the peripheral leukocytes permeable to water and urea, but not to glycerol, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 1998, 244: 268-274.